

THESIS

MÜNICH

1966

Untersuchungen über den Einfluß
von intramuskulär applizierter
Hyaluronidase auf den Gehalt
an Haptoglobin,
Fibrinogen und α_2 -Globulin im Blut

INGEBORG HENNECKE

München

1966

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN EINFLUSS VON INTRAMUSKULÄR
APPLIZIERTER HYALURONIDASE AUF DEN GEHALT AN HAPTOGLOBIN,
FIBRINOGEN UND α_2 -GLOBULIN IM BLUT.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
I n g e b o r g H e n n e c k e
aus Bad M ü n d e r

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Privatdozent Dr. H. MATHIES

Korreferent: Professor Dr. W. SEITZ

Dekan: Professor Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 14. 2. 1967

Druck: Mikrokopie GmbH . München . Bruderstr. 9

IN DANKBARKEIT
MEINEN ELTERN
GEWIDMET

Inhaltsverzeichnis

- A. Einleitung
- B. Haptoglobintypen und -eigenschaften.
- C. Physiologische Bedeutung des Haptoglobins.
- D. Normalwerte und physiologische Abweichungen des Serumhaptoglobinspiegels.
- E. Genetik und forensische Bedeutung der Haptoglobintypen.
- F. Veränderungen des Serum-Haptoglobinspiegels unter pathologischen Bedingungen mit besonderer Berücksichtigung der Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises.
- G. Bildungsstätte und Entstehung des Haptoglobins.
- H. Hyaluronsäure und Hyaluronidase.
- I. Fragestellung und eigene Überlegungen.
- K. Methodik.
 - 1. Untersuchungsgut, Arbeitsgang.
 - 2. Quantitative Haptoglobinbestimmung.
 - a) Grundsätzliches zur Methodik.
 - b) Reagenzien und Lösungen.
 - c) Apparative Ausrüstung.
 - d) Durchführung der Bestimmungen.
 - e) Auswertung.
 - 3. Fibrinogenbestimmung.
 - 4. Papierelektrophorese.
- L. Ergebnisse.
 - 1. Haptoglobinwerte.
 - 2. Fibrinogenwerte.
 - 3. α_2 -Fraktion der Elektrophorese.
- M. Diskussion der Ergebnisse.
- N. Zusammenfassung.
- O. Literaturverzeichnis.
- P. Danksagung.
- R. Lebenslauf.

A. Einleitung

Das Haptoglobin ist ein Serum-Protein, das sich mit dem Hämoglobinkomplex verbinden kann. Seine Entdeckung geht auf die Beobachtung von P o l o n o v s k i und J a y l e (69) zurück, daß die Peroxydaseaktivität des Hämoglobins durch Kontamination mit Serum wesentlich verstärkt wird. Zur Erklärung dieses Effektes postulierten die genannten Autoren ein im Serum enthaltenes Protein, das in Verbindung mit Hämoglobin dessen Peroxydaseaktivität verstärkt. Weitere Untersuchungen von P o l o n o v s k i und J a y l e (70) zeigten, daß Hämoglobin mit diesem Serumprotein, das als "Haptoglobin" (Hp) bezeichnet wurde, stöchiometrisch unter Bildung eines festen Hämoglobin-Haptoglobin-Komplexes reagiert. S m i t h l e s und W a l k e r (84) fanden mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese die Typen Hp1-1, Hp2-2 und Hp2-1. Chemisch handelt es sich nach Analysen von J a y l e und B o u s s i e r (32, 33) um ein Glykoprotein, das Galaktose, Mannose, Hexosamin, Neuraminsäure, Schwefel, Stickstoff und Eiweiß enthält. Über die Bildungsstätte des Haptoglobins im Organismus äußerten sich ebenfalls J a y l e und B o u s s i e r (32, 31) als erste mit Hilfe einer Hypothese: Fibrozyten sollen Haptoglobin bilden, das teilweise in die Grundsubstanz des kollagenen Bindegewebes eingebaut und dort durch die depolymerisierende Wirkung der Hyaluronidase wieder freigesetzt werden soll. Das Haptoglobin soll dann in der Leber in zwei Teile gespalten werden. Der kohlenhydratärmere Teil soll zu Fibrinogen polymerisiert werden, der kohlenhydratreichere Teil soll das sog. "Orosomukoid", ein α_1 -Mukoid, sein.

Demnach würden Zusammenhänge zwischen Haptoglobin und Fibrinogenspiegel einerseits und zwischen Haptoglobin und Orosomukoid resp. α_1 -Mukoid andererseits bestehen.

K l u t h e et al. (44) sowie A l l i s o n (2) nehmen dagegen nach neueren Untersuchungen an, daß die Leber

der alleinige Bildungsort des Haptoglobins ist. Daß die Wahrheit möglicherweise in der Mitte liegt, läßt eine Arbeit von S o n n e t (87) annehmen: er glaubt, daß der Proteinanteil der Seromukoide resp. des Haptoglobins in der Leber gebildet wird und der Kohlenhydratanteil sich vom Bindegewebe herleitet. Dies veranlaßte M a t h i e s et al. (56) zu weiteren interessanten Untersuchungen: eine intramuskuläre Injektion von Hyaluronidase beim Menschen läßt den Haptoglobinspiegel im Blut signifikant ansteigen.

In der vorliegenden Arbeit sollte versucht werden, der älteren Vorstellung von J a y l e et al. (31) folgend, die Rolle des Fibrinogens neben Haptoglobin nach intramuskulärer Injektion von Hyaluronidase näher zu untersuchen.

B. Haptoglobintypen und -eigenschaften

Nachdem es, wie oben angeführt, P o l o n o v s k i und J a y l e (70) gelungen war, die Stöchiometrie der Reaktion $Hb + Hp \rightarrow Hb-Hp$ -Komplex nachzuweisen, wuchs das Interesse an der Natur dieses Eiweißstoffes.

H e r m a n - B o u s s i e r et al. (25), v a n R o y e n (75), B u r t i n et al. (10), J a y l e et al. (34,30) konnten zeigen, daß Haptoglobin in der freien Elektrophorese, in der Papierelektrophorese und in der Agarelektrophorese mit den α_2 -Globulinen wandert. - Nach N y m a n (64) beträgt der Anteil des Haptoglobins an den α_2 -Globulinen 24,2 %. Untersuchungen von M a t h i e s (54) ergaben den praktisch identischen Wert von 23,9 %. M a t h i e s et al. (57) konnten weiterhin nachweisen, daß es bei Haptoglobinspiegelerhöhungen nicht notwendigerweise zu einer α_2 -Globulinvermehrung kommen muß, sondern daß es innerhalb der α_2 -Globuline zu Relationsverschiebungen zugunsten des Haptoglobins kommen kann. M a t h i e s und Mitarbeiter (57) nehmen jedoch ebenso wie S c h u m a c h e r und S c h l u m b e r g e r (79), L o n g s w o r t h et al. (52), D o l e et al. (13) und viele andere Autoren an, daß Schwankungen der α_2 -Globuline in der Elektrophorese fast ausschließlich Schwankungen des Haptoglobinspiegels zuzurechnen sind.

S m i t h i e s und W a l k e r (83, 84) trafen mit Hilfe der Stärkegelelektrophorese die heute gültige Unterteilung in die drei Haptoglobintypen Hp1-1, Hp2-2 und Hp2-1, die sich voneinander durch die Schnelligkeit ihrer anodischen Beweglichkeit sowie die Anzahl der aufgetrennten Einzelfraktionen unterscheiden (siehe Abbildung 1). Die schnellste anodische Beweglichkeit zeigt mit einer einzigen Fraktion Hp1-1. Hp2-1 besitzt mehrere Fraktionen: davon wandert eine so schnell wie der Typ Hp1-1, die anderen wandern langsamer. Hp2-2 hat mit mehreren Fraktionen die geringste anodische

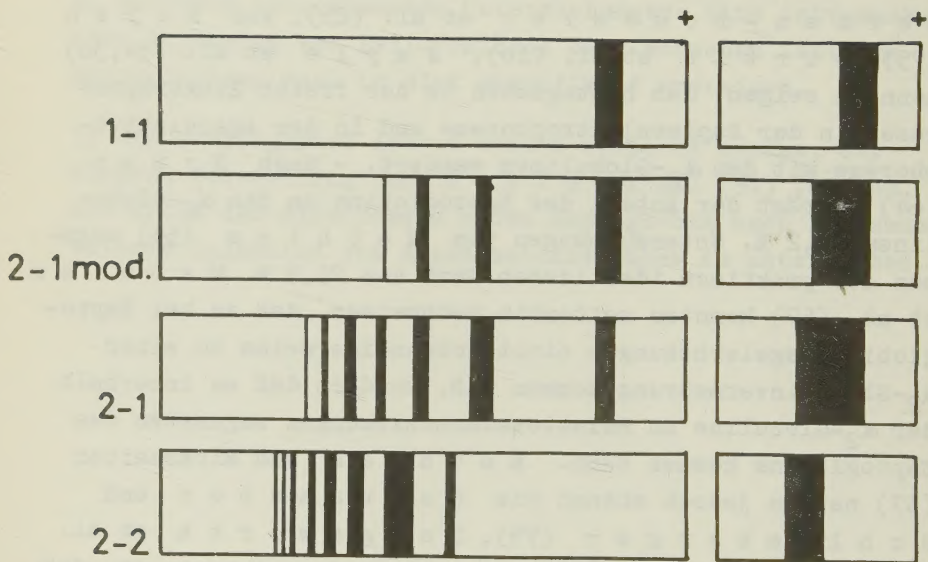


Abb. 1: Agartalelektrophoretische Bestimmung der einzelnen Haptoglobintypen.

Beweglichkeit. Weitere Ausführungen über die verschiedenen Haptoglobintypen siehe unten im Abschnitt "Genetik und forensische Bedeutung".

Angaben über das Molekulargewicht der einzelnen Hp-Typen nach Untersuchungen der Sedimentationskonstanten differieren von Autor zu Autor.

Hp1-1 soll nach G u i n a n d et al. (24) und J a y l e et al. (32) ein Molekulargewicht von 85000 haben. Das Molekulargewicht der Typen Hp2-2 und Hp2-1 soll ein Zwei- oder Mehrfaches von 85000 betragen (L a u r e l l (48)).

Die Löslichkeit des Haptoglobins in Perchlorsäure läßt dieses nach J a y l e et al. (33,32,37) den Serum-Glykoproteinen nach W i n z l e r (93) zuordnen. Die biochemische Auftrennung durch J a y l e und B o u s s i e r (32,33) ergab, daß Haptoglobin aus Galaktose, Mannose, Hexosamin, Neuraminsäure, Schwefel, Stickstoff und Eiweiß in bestimmter prozentualer Zusammensetzung besteht. S c h u l t z e und H e i d e (77) bringen die langsamere anodische Beweglichkeit von Hp2-1 und Hp2-2 mit deren geringeren Neuraminsäuregehalt in Zusammenhang.

C. Physiologische Bedeutung des Haptoglobins

Schon von P o l o n o v s k i und J a y l e (70), im weiteren von R o b e r t et al. (74) und v a n R o y e n (75) wird die Stöchiometrie der Reaktion zum stabilen praktisch undissoziierten Hb-Hp-Komplex vermerkt. P o l o n o v s k i (67), L a u r e l l und N y m a n (49) und N e a l e et al. (63) zeigten, daß bei hämolytischen Anämien der Serum-Haptoglobinspiegel sinkt, was zwanglos mit einem vermehrten Haptoglobinverbrauch durch das pathologisch-erkrankte Hämogloberin erklärt werden kann. Interessanterweise entsteht, wie aus Untersuchungen von L a u r e l l und N y m a n (50) hervorgeht, bei einer intravasalen Hämolyse solange keine Hämoglobinurie, wie die Hb-Konzentration im Plasma 80-140 mg% nicht übersteigt. Dieselben Autoren sowie auch A l l i s o n und R e e s (6) deuten diese Tatsache nicht mit Hilfe der Annahme einer Nierenschwelle für Hämoglobin durch tubuläre Rückresorption bzw. Überschreitung der maximalen tubulären Rückresorptionskapazität für Hämoglobin, sondern weisen nach, daß das Hb unterhalb der genannten Plasmakonzentration von 80-140 mg % gar nicht erst im Primärharn erscheint: Hb wird vielmehr durch Haptoglobin abgefangen; der gebildete Hp-Hb-Komplex mit einem Molekulargewicht von 150 000 oder mehr wird aber nicht vom Glomerulus durchgelassen, eine gesunde Nierenfunktion vorausgesetzt. Für Haptoglobin allein ist nach J a y l e und B o u s s i e r (33) die Niere nur bei schwersten Nephropathien durchgängig; aber selbst bei Fällen von nephrotischem Syndrom mit schwersten Proteinurien wurde von M a r n a y (53) im Urin nur Hp1-1 und zum Teil Hp2-1 gefunden, nicht dagegen das höhermolekulare Hp2-2. Der Organismus ist also bestrebt, sein Haptoglobin nicht zu verlieren. Nach L a u r e l l und N y m a n (50) wird das anfallende Hb-Hp ständig durch die Leber aus der Blutbahn eliminiert und metabolisch weiter verwertet; dies soll bis zu einer Menge von 400 mg Hb-Hp pro Stunde möglich sein.

Daß bei intravasaler Hämolyse der Haptoglobinspiegel, wie oben bereits angeführt, bis auf Werte von 0 mg% absinken kann, erklärt sich, weil die Rate der Hb-Freisetzung in das Plasma die Rate des Ersatzes von Haptoglobin durch seine Bildungsstätten übersteigt. Zusammenfassend (siehe auch Abb. 2) darf also die physiologische Rolle des Haptoglobins mit Allison (6,4,1) und Laurel (47) dahingehend begriffen werden, daß der Organismus mit seiner Hilfe Hämoglobin und damit Eisen behält und nicht im Falle einer intravasalen Hämolyse durch die Niere verliert, vorausgesetzt, daß einerseits die Hämolyse nicht zu hochgradig ist, d.h. ein Plasma-Hb-Spiegel von 80-140 mg% nicht überschritten wird und andererseits die Nieren- bzw. Glomerulusfunktion intakt ist.

Ich möchte an dieser Stelle jedoch zu bedenken geben, daß unter den pathophysiologischen Verhältnissen einer "Primärharn-Hämoglobinurie" sicher auch eine echte Nierenschwelle für Hämoglobin vorliegt, da dieses bis zu einer gewissen Menge tubulär rückresorbiert wird. Bekanntlich sind ja in der Pathologie die Crush-Niere, die Hämolyse-Niere oder die Chromoproteinurie-Niere nach Zollinger neben vielen anderen Veränderungen auch durch in den Nierenepithelien abgelagertes, also reabsorbiertes Hämoglobin bzw. dessen Abbauprodukte gekennzeichnet. Teleologisch also ein zweiter Riegel, mit dem sich der Organismus gegen einen zur Katastrophe führenden Eisenverlust abzusichern versucht. Außerdem soll in diesem Rahmen nur nebenbei erwähnt werden, daß bei der Frage nach der Natur der Hb-Hp-Bindung van Royen (75) in der Festigkeit von Komplexen des Haptoglobins mit CO-Hämoglobin, Methämoglobin, CN-Hämoglobin, Oxy-Hämoglobin und reduziertem Hämoglobin keinerlei Unterschiede feststellte. In Parallele dazu ist die Feststellung von Allison und Rees (6) interessant, daß bei Hämolysen Methämalbumin erst dann gefunden wird, wenn die Hb-Konzentration die Bindungskapazität des Serum-Haptoglobins erschöpft hat, d.h. das Serum haptoglobinfrei ist.

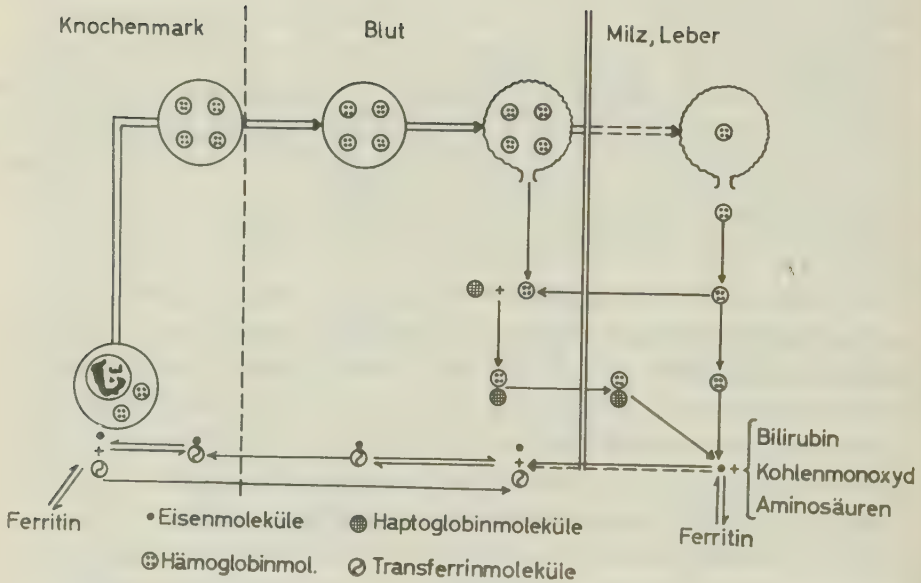


Abb. 2: Physiologische Rolle des Haptoglobins beim Hämoglobinabbau.

nach K l u t h e und I s l i c k e r (42) scheint dem Aptoglobin eine weitere wichtige Funktion zuzukommen: Es soll das Properdinsystem hemmen. Das Properdin ist, laut W u h r m a n n und W u n d e r l y (94), ein natürlich vorkommender Proteinfaktor des menschlichen Serums. Zusammen mit einer Komponente von Komplement sowie Mg^{++} -Ionen bildet es das Properdinsystem; dieses hat bakterizide (Lysis) und virusneutralisierende Eigenschaften. Außerdem sollen zwischen dem Properdinsystem und den Faktoren, welche zur paroxysmalen hämolytischen Hämoglobinurie führen, Ähnlichkeiten bestehen. Wenn nämlich einem solchen Serum das Properdin entzogen wird, dann verliert es seine hämolytischen Eigenschaften (W u h r m a n n und W u n d e r l y (94)). Somit würde das Aptoglobin vermutlich auch hier positiv in den Eisenstoffwechsel eingreifen.

D. Normalwerte und physiologische Abweichungen des Serumhaptoglobinspiegels

Je nach Autor differieren in der Literatur die Angaben über die Normalwerte des Serum-Haptoglobins. Auch die normale Streubreite in der Bevölkerung ist relativ groß. Ziemlich konstant ist dagegen nach J a y l e et al. (35) der individuelle Haptoglobinspiegel eines Menschen.

Folgende Übersicht soll die in der Literatur gefundenen Werte, z.T. nach Geschlechtern aufgeteilt, vergegenwärtigen:

Untersuchungsgut	Serum-Hp-Spiegel	Autor
unbekannt	130 $\pm$ 26 mg%	Allison et al. (5)
1000 Männer	74 $\pm$ 31 mg%	Jayle et al. (31)
299 Fälle	89 $\pm$ 3,8 mg%	Mathies et al. (55)
84 Frauen	90 $\pm$ 30 mg%	Nyman (64)
144 Männer	113 $\pm$ 43 mg%	
18 Frauen	117 $\pm$ 37 mg%	Schumacher et al. (79)

Tab. 1: Übersicht über die in der Literatur angegebenen Normalwerte des Serum-Haptoglobins.

Beim eigenen, noch unten anzuführenden Untersuchungsgut betrugen die Werte 130,63 mg, 158,88 mg, 119,33 mg, 151,25 mg und 118,64 mg Haptoglobin auf 100 ml Serum.

Auf den niedrigeren Haptoglobinspiegel bei Frauen sowie dessen Abhängigkeit vom Zyklus wies N y m a n (64) hin. Daß die Geschlechtsunterschiede offenbar durch den Sexualhormonspiegel bedingt sind, lassen die Untersuchungen von S t u d n i t z und N y m a n (88) sowie B o r g l i n und N y m a n (9) annehmen, indem diese zeigen, daß der

Haptoglobinspiegel nach Androgengabe steigt und nach Applikation von Diäthylstilböstrol und Äthinylöstradiol rapide absinkt.

Die Behauptung von J a y l e und B o u s s i e r (31), daß der Haptoglobinspiegel mit zunehmendem Alter ansteigt, weist N y m a n (64) als nicht gesichert zurück. Indes ist nach A l l i s o n und R e e s (6), T u t t l e (92) und P o l o n o v s k i (68) beim Neugeborenen quantitativ selten Haptoglobin nachzuweisen. Eine eindeutige Typenunterscheidung ist nach K a h l i c h - K o e n n e r (40) erst nach der ersten Lebenswoche möglich.

E. Genetik und forensische Bedeutung der Haptoglobintypen

S m i t h i e s und W a l k e r (85) forderten auf Grund von 18 Familienuntersuchungen, daß die drei Typen Hp1-1, Hp2-1 und Hp2-2 durch allele Gene determiniert sein müssen. Die Gene bezeichneten sie mit Hp^1 und Hp^2 .

A l l i s o n (3) bekräftigte diese Theorie. Genotyp und Phänotyp würden sich demnach folgendermaßen entsprechen:

$$Hp^1Hp^1-----Hp1-1$$
$$Hp^2Hp^1-----Hp2-1$$
$$Hp^2Hp^2-----Hp2-2$$

Nach einem von P r o k o p und B u n d s c h u h (72) entlehnten Schema bestünden beispielsweise bei zwei Paarungspartnern, denen jeweils die Typen Hp2-1 eigen sind, die in Abb. 3 wiedergegebenen Kombinationsmöglichkeiten in Bezug auf die F_1 -Generation.

Untersuchungen über die Typenverteilung in der Bevölkerung ergaben nach B a i t s c h und L i e b r i c h (8), S e r f a s und S c h u b e r t (81), A l l i s o n , B l u m b e r g und R e e s (5), G a l a t i u s - J e n s e n (17), T a r u k o s k i (89), M a t h i e s , S c h l e i f e r und L i e b r i c h (55) sowie vielen anderen Autoren teilweise erhebliche Abweichungen in verschiedenen Ländern und Bevölkerungsgruppen. So fanden beispielsweise M a t h i e s und Mitarbeiter (55) im oberbayerischen Raume an Hand von 299 Seren folgende Verteilung: 16,4 % für Hp1-1, 49,8 % für Hp2-1 und 33,8 % für Hp2-2.

Neben den Standardtypen mit ihren charakteristischen Mustern im Stärkegelelektrophoresediagramm gibt es noch eine Reihe von Sonderformen wie Hp2-1 mod. (modifiziert) nach S m i t h i e s (82), (siehe auch Abb. 1, 2. Block), den Typus HpCa nach G a l a t i u s - J e n s e n (19), den Johnson-Typus nach S m i t h i e s und C o n e l l (86),

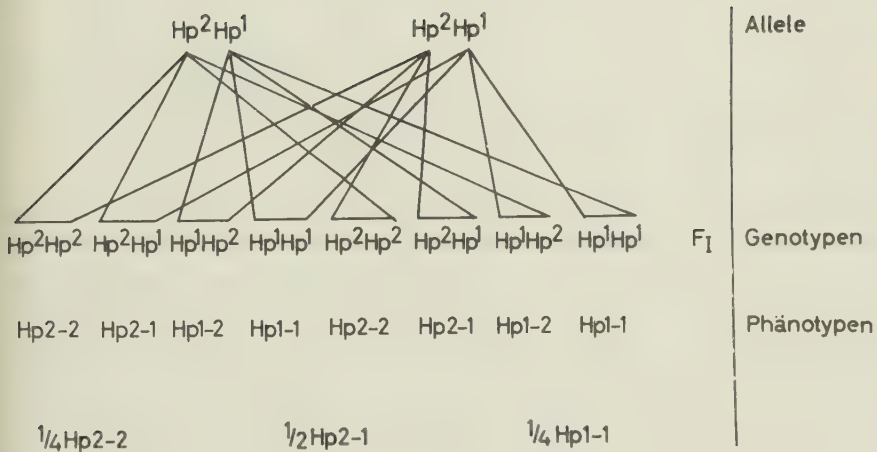


Abb. 3: Vererbungsschema des Haptoglobins.

den Typ F (B l u m b e r g , A l l i s o n und G a r r y), den Typ D (P r o k o p und B u n d s c h u h (72)) sowie den weak-Typ (G i b l e t t und S t e i n b e r g (22)). Im Rahmen dieser Arbeit sei lediglich auf die entsprechende Literatur hingewiesen. Der weak-Typ stellt möglicherweise, ähnlich dem Typ Hp2-1 mod., einen fließenden Übergang von Haptoglobin-Normalspiegel über die Hypohaptoglobinämie zur sog. Ahaptoglobinämie dar, einen Zustand, den A l l i s o n , B l u m b e r g und R e e s (5) als den Phänotyp HpO-O bezeichneten. Möglicherweise liegt jedoch einem Teil der Typen Hp2-1 mod. und weak nach B a i t s c h und L i e - b r a c h (8) ein niedriger Serumhaptoglobinspiegel im Gefolge von Hämolysen oder eines Leberschadens zugrunde.

Schon bald nach der Aufstellung der Theorie über die Erbllichkeit der Hp-Typen durch S m i t h i e s und W a l - k e r (85) wurde deren forensische Bedeutung zu Vaterschaftsuntersuchungen von G a l a t i u s - J e n s e n (18), P r o k o p et al. (71), K a h l i c h - K o e n n e r (39) und anderen Autoren erkannt. Die Gegenüberstellung der Konstellationen, die die Vaterschaft ausschließen, läßt sich leicht von jedem nachvollziehen. Es ist dabei klar, daß für einen heterozygoten Mann mit Hp2-1 keinerlei Ausschlußchancen bestehen. Nach H i r s z f e l d (26) besteht durch die Haptoglobintypenuntersuchung für den zu Unrecht beschuldigten Mann eine Ausschlußchance von 18 %.

Veränderungen des Serum-Haptoglobinspiegels unter pathologischen Bedingungen mit besonderer Berücksichtigung der Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises

Erhöhungen des Serum-Haptoglobinspiegels finden sich bei entzündlichen und destruktiven Prozessen, also bei Erkrankungen, denen ein gesteigerter Gewebsabbau oder -umbau eigen ist. Die in Frage kommenden Krankheiten bzw. Krankheitsgruppen sollen hier im einzelnen aufgeführt werden:

I. Infektionskrankheiten

Die Tuberkulose geht nach T r o i s i e r et al. (91), J a y l e et al. (35) mit erhöhten Serum-Haptoglobinwerten einher, die in Beziehung zur Aktivität des tuberkulösen Geschehens stehen sollen. Nach N y m a n (64) kann bei gewissen Infektionskrankheiten das Haptoglobin im Serum während der ersten zwei Krankheitswochen rapide absinken, nachdem es in den ersten Krankheitstagen sehr hohe Werte bot. Das gilt besonders für Pneumonie, Malaria, Typhus, typhöses Fieber und Meningokokkenmeningitis. Bei Tonsillitis, Peritonsillitis, Stomatitis und Sinusitis fand N y m a n (64) stets hohe Werte. F a l k (14) gibt jedoch für Diphtherie, Scharlach, Typhus, E-Ruhr, Meningokokkenmeningitis, Poliomyelitis und Pneumonie zum Teil normale Werte an, führt dies allerdings auf den Einfluß einer bereits eingeleiteten Therapie zurück.

II. Maligne Tumoren

Bei bösartigen Neoplasmen ist der Serum-Haptoglobinspiegel nach den Untersuchungen von J a y l e et al. (37), N y m a n (64) und F a l k (14) erhöht. N y m a n (64) präziserte jedoch dahingehend, daß bei lokalisiertem Primärtumor sowie bei Metastasierung ohne sonstige Komplikationen Haptoglobin normale Werte zeigen kann. Die höchsten Werte traten bei Lungen- und Skelettmetastasen auf.

III. Leberkrankheiten

J a y l e et al. (38) und G a l a t i u s - J e n s e n (16) fanden bei akuter Hepatitis einen Haptoglobinabfall.

L a u r e l l und N y m a n (50) sowie N y m a n (64) registrierten dagegen normale Werte, F a l k (14) bestätigt dies. Chronische Lebererkrankungen, also in erster Linie die Zirrhose, sind nach N y m a n (64) und F a l k (14) durch niedrige Haptoglobinwerte charakterisiert, wenn nicht gar eine Ahaptoglobinämie vorliegt (Fälle von G a l a - t i u s - J e n s e n , zit. nach (72), N y m a n et al. (65) und F a l k (14)).

IV. Gewebstrauma

S c h u m a c h e r (78) sowie S c h u m a c h e r und S c h l u m b e r g e r (79) beobachteten bei leichteren (Scheidenplastik, Portioamputation) und schwereren gynäkologischen Operationen (Uterustotalexstirpation, Radikaloperation) entsprechend dem Grade der Gewebstraumatisation unter anderem eine Vermehrung des Haptoglobins und der α_2 -Globuline innerhalb der drei postoperativen Tage. Sie setzen diese humoralen Veränderungen in Beziehung zur Quantität des zerstörten Gewebsmaterials und der zu resorbierenden Exsudatmenge.

V. Nierenkrankheiten

Wie schon oben im Abschnitt über die physiologische Bedeutung des Haptoglobins ausgeführt wurde, wird dieses normalerweise nicht nur nicht im Urin ausgeschieden, sondern erscheint erst gar nicht im Primärharn. Erst bei schweren Nephropathien wird nach J a y l e und B o u s s i e r (33) der Glomerulus für Haptoglobin durchgängig, und selbst dann wird, M a r n a y (53) zufolge, meist nur das niedermolekulare Hp1-1, seltener Hp2-1, nicht dagegen Hp2-2 ausgeschieden. Die Serumwerte des Haptoglobins sind nach den Untersuchungen von K l u t h e und M e y e r (44) bei Pyelonephritis, akutem Nierenversagen und nephrotischem Syndrom teilweise stark erhöht.

VI. Blutkrankheiten

P o l o n o v s k i (67) wies schon 1944 darauf hin, daß bei hämolytischen Anämien der Serum-Haptoglobinspiegel stark erniedrigt ist bzw. nicht mehr bestimmbare Werte aufweist. Diese Befunde wurden in der Folgezeit von zahlreichen Autoren bestätigt, so von L a u r e l l und N y m a n (49), N e a l e et al. (63) und N y m a n et al. (65). Nach allem, was bereits oben über die Bindung des Hämoglobins gesagt wurde, läßt sich die niedrige Serumhaptoglobinkonzentration zwanglos mit einem Haptoglobinverbrauch erklären, dem die Bildungsstätten nicht mehr in dem Maße nachzukommen vermögen wie Hämoglobin intravasal frei wird. C h e v a l l i e r und W o l p e (11) fanden gleiche Verhältnisse bei der perniziösen Anämie und beobachteten außerdem, daß eine niedrige Serum-Haptoglobinkonzentration beim hämolytischen Ikterus nach Splenektomie auf übernormale Werte anstieg. N y m a n , G y d e l l und N o s s l i n (65) formulierten aufgrund eines großen Krankengutes folgende allgemeine Regel: die Haptoglobinkonzentration ist proportional der Erythrozytenlebensdauer und umgekehrt der Gallenfarbstoffmenge im Stuhl und der Anzahl der Retikulozyten. - Bei der Panmyelopathie ist die Serum-Haptoglobinkonzentration nach Ergebnissen von M ü l l e r und K l u t h e (61) erhöht, möglicherweise aufgrund eines erhöhten Zellzerfalls oder noch unbekannter entzündlicher Prozesse.

VII. Rheumatismus

Von besonderem klinischen und theoretischen Interesse sind die Untersuchungen über den Haptoglobinspiegel bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. J a y l e und B o u s s i e r (31) sowie A l l i s o n , B l u m b e r g und R e e s (5) fanden hohe Werte beim akuten rheumatischen Fieber. K l u t h e und M ü l l e r (43) registrierten bei chronischer Polyarthritiden und bei Morbus Bechterew zum Teil stark erhöhte Serum-Haptoglobinkonzentrationen. Zu gleichen Ergebnissen kamen L a c a p è r e et al. (46)

sowie P e r r i n i und R i z z i (66). Dabei sollen nach K l u t h e und M ü l l e r (43) Parallelen zum C-reaktiven Protein bestehen, nicht dagegen zum Rheumafaktor. An einem umfangreichen Krankengut der Rheumatiker-Ambulanz der hiesigen Medizinischen Universitätspoliklinik bestätigten M a t h i e s und Mitarbeiter (55) einerseits die Befunde obengenannter Autoren bei der chronischen Polyarthrititis, andererseits bezogen sie auch Fälle von degenerativen Gelenkerkrankungen in ihre Untersuchung ein. Dabei wurde auch der Rheumafaktor berücksichtigt. Im einzelnen gelangten folgende Krankheitsbilder zur Untersuchung:

1. Chronische Polyarthrititis: a. destruktiver Typ, b. appositioneller Typ, c. destruktiv-appositioneller Typ, d. ohne röntgenologische Veränderungen.
2. Arthrosis deformans
3. Arthrotisch-arthritische Mischformen mit a. destruktiven Veränderungen, b. appositionellen Veränderungen, c. destruktiv-appositionellen Veränderungen, d. ohne arthrotische Veränderungen.
4. Infektrheumatoid
5. Morbus Sjögren
6. Morbus Reiter
7. Harnsäuregicht
8. Degenerative Wirbelsäulenveränderungen
9. Statische Beschwerden, Überlastungsschäden.

Bei der chronischen Polyarthrititis mit destruktiven oder appositionellen Veränderungen wurde in einem hohen Prozentsatz eine Haptoglobinspiegelerhöhung festgestellt. Auch bei den entzündlich-degenerativen Mischformen der Arthrosis deformans war das Haptoglobin häufig über die Norm erhöht. M a t h i e s (54) betont, daß die Haptoglobinspiegelerhöhungen weniger ein Aktivitätskriterium darstellen, sondern eher Ausdruck lokaler Vorgänge im befallenen Gewebe sind. M a t h i e s und Mitarbeiter (55) lehnen ebenso wie K l u t h e und

M ü l l e r (43) einen Zusammenhang zwischen Haptoglobinspiegel-erhöhung und Rheumafaktor bei der chronischen Polyarthrititis ab, wenngleich bei rheumafaktor-positiven chronischen Polyarthritikern der Haptoglobinspiegel häufiger erhöht ist als bei solchen mit negativem Rheumafaktor. M a t h i e s und Mitarbeiter (55) sehen jedoch die Ursache dafür darin, daß eben diese schwereren Erkrankungen, die rheumafaktor-positiv sind, auch höhere Haptoglobinkonzentrationen aufweisen. Letztlich sind ja auch bei degenerativen Gelenkerkrankungen Haptoglobinspiegelsteigerungen ziemlich häufig.

Bei Wirbelsäulenerkrankungen statischer oder degenerativer Genese fanden die genannten Autoren keine signifikante Erhöhung des Serum-Haptoglobinspiegels.

Diese Ergebnisse, die die engen Relationen zwischen Veränderungen am Binde- und Stützgewebe und einer Erhöhung der Haptoglobinkonzentration im Serum erweisen, sind außerdem ein interessanter Aspekt in der Diskussion um die Bildungsstätten des Haptoglobins, worauf an anderer Stelle nochmals eingegangen werden soll.

G. Bildungsstätte und Entstehung des Haptoglobins

Die Frage nach der Herkunft des Haptoglobins ist gegenwärtig noch nicht schlüssig beantwortet.

J a y l e und B o u s s i e r (32, 31, 35) stellten als erste eine Hypothese über die Bildungsweise und den Bildungs-ort des Haptoglobins auf. Diese Hypothese ist übrigens von genannten Autoren heute teilweise wieder aufgegeben worden. Sie stützte sich auf klinische Beobachtungen und beinhaltete folgendes: Fibrozyten sollen Haptoglobin aufbauen. Dieses wird nun teilweise in die Blutbahn freigesetzt, zum anderen Teil bildet es zusammen mit Hyaluronidaten und Chondroitinsulfaten, die von den Mastzellen gebildet werden, die Grundsubstanz des kollagenen Bindegewebes. Aus letzterem kann das Haptoglobin durch das Ferment Hyaluronidase wieder freigesetzt werden. Das im Blut kreisende Haptoglobin soll dann in der Leber in zwei Teile aufgespalten werden. Der eine, kohlenhydratärmere Teil soll zu Fibrinogen polymerisiert werden. Den anderen, kohlenhydratreicheren Teil stellt das sog. "Orosomukoid" dar. Das Orosomukoid ist nach S c h u l t z e und H e i d e (77) ein α_1 -Sero-mukoid mit einem Molekulargewicht von 42000 und etwa 40 % Kohlenhydratanteilen; es soll die Gerinnungszeit verlängern, indem es wahrscheinlich die Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin hemmt. Wie gesagt, beruht diese Hypothese der Haptoglobinentstehung vorwiegend auf klinischen Beobachtungen. J a y l e und B o u s s i e r (32, 31, 35) fanden nämlich gewisse Zusammenhänge zwischen Haptoglobin-, Orosomukoid- und Fibrinogenspiegel. Allerdings wurde statt einer quantitativen Fibrinogenbestimmung den Untersuchungen die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit zugrunde gelegt, was nach den neueren Untersuchungen über senkungsaktive Substanzen von R u h e n s t r o h - B a u e r und seinem Arbeitskreis nicht mehr gebilligt wird (76, 62). M a - t h i e s und Mitarbeiter (57) fanden dagegen keine Abhängigkeit des Fibrinogenspiegels und der Blutkörperchen-

senkungsgeschwindigkeit von der Höhe des Haptoglobinspiegels, sondern lediglich eine gewisse Korrelation bei Betrachtung der Mittelwerte.

Eine weitere Hypothese über den Haptoglobinbildungsort geht von der Feststellung S o n n e t ' s (87) aus, daß Neuraminsäure und Fukose als Haptoglobinbestandteile nicht in der Leber synthetisiert werden können. Andererseits ist aber durch die Arbeiten von M i l l e r , B l y und B a l e (58, 60, 59) bekannt, daß unter anderen auch die Proteinkomponente der Seromukoide in der Leber gebildet wird. S o n n e t (87) folgert daher, daß der Aufbau der Seromukoide und somit auch des Haptoglobins als Zusammenschluß eines in der Leber synthetisierten Proteinanteiles und einer vom kollagenen Bindegewebe gelieferten Kohlenhydratkomponente zu begreifen ist.

A l l i s o n (2) und K l u t h e und M e y e r (44) nehmen neuerdings an, daß das Haptoglobin vollständig in der Leber synthetisiert wird. Nach G a r b y (20) soll dabei die täglich gebildete Menge an Haptoglobin das zwei- bis dreifache der unter physiologischen Bedingungen benötigten Menge betragen, die zur Bindung des im Plasma vorhandenen Hämoglobins notwendig ist.

Auch der J a y l e 'sche Arbeitskreis (J a y l e und M o r e t t i (36)) hat seine zuerst konzipierte Theorie über den Haptoglobinbildungsort revidiert und glaubt, daß vorwiegend die Leber als Synthesestätte anzusprechen ist. Es wird allerdings ausdrücklich auf die engen Relationen zwischen dem Metabolismus des Haptoglobins und dem des Bindegewebes hingewiesen.

Diese Feststellungen lassen Zusammenhänge zwischen dem Polymerisationsgrad der Mukopolysaccharide der Grundsubstanz und dem Haptoglobinspiegel vermuten, zumal F r i c k e (15) im Bindegewebe neben fünf anderen

Serumeiweißfraktionen auch Haptoglobin fand. M a t h i e s und Mitarbeiter (56) stellten nach intramuskulärer Hyaluronidaseapplikation ein signifikantes Ansteigen der Serum-Haptoglobinkonzentration fest. Auch die schon oben erwähnte Tatsache, daß bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, also Abbauvorgängen im Bindegewebe, die Haptoglobinaktivität des Serums hoch ist, spricht gegen die Annahme, die Leber sei alleiniger Bildungsort des Haptoglobins.

I. Hyaluronsäure, Hyaluronidase

Die Hyaluronsäure, eine im Organismus weit verbreitete Substanz (L e u t h a r d t (51), A m m o n und D a r s c h e r l (7)), gehört zu den Mucopolysacchariden, also einer Gruppe hochmolekularer Stoffe, die als Bausteine einfache Zucker, Aminosäuren und Uronsäuren enthalten und sich meistens mit Proteinen zu Mucoproteiden oder Mucoiden verbinden. Die Hyaluronsäure findet sich in der Nabelschnur, im Glaskörper des Auges, in der Synovialflüssigkeit und ganz besonders in der Grundsubstanz des kollagenen Bindegewebes. Die Grundeinheit der Hyaluronsäure stellt ein Disaccharid dar, die Hyalobiuronsäure, die wiederum aus Glucuronsäure und N-Acetyl-Glucosamin besteht.

Die Kittsubstanz der Bindegewebsfibrillen und damit die Hyaluronsäure kann durch ein spezifisches Enzym, die Hyaluronidase, durch hydrolytische Spaltung depolymerisiert werden. Dieses Ferment findet sich in reichlicher Menge im Hoden, wo es vorwiegend an die Spermatozoen gebunden ist und hier für das Eindringen des Spermiums in das Ei von Bedeutung zu sein scheint. Außerdem findet es sich in pathogenen Mikroorganismen wie Pneumokokken, Streptokokken und Gasbrandbazillen, denen sie das Eindringen in das infizierte Gewebe durch Hydrolyse der Mucopolysaccharide der Grundsubstanz ermöglicht. Hier wirkt die Hyaluronidase als "spreading factor", worunter man Stoffe versteht, die unter der Haut die Ausbreitung grobdispenser und hochmolekularer Stoffe wie Kohlepartikelchen, Tusche, Farbstoffe usw. fördern. Der Einfluß der Hyaluronidase auf die Hyaluronsäure und damit die Festigkeit des Bindegewebes ist also von großer Bedeutung.

I. Fragestellung

In vorausgehenden Kapiteln haben wir erfahren, daß zwischen Stoffwechsel und Veränderungen des Stütz- und Bindegewebes enge Beziehungen zur Höhe der im Serum vorhandenen Haptoglobinkonzentration bestehen. Dabei sind wir uns der schon erwähnten Einschränkungen bewußt und wissen auch die Rolle der Leber in Bezug auf ihre Synthese- und Abbauleistungen zu würdigen. Auf einige wichtige Voraussetzungen für die dieser Arbeit zugrunde liegende Thematik sei nochmals besonders hingewiesen:

1. Hohe Haptoglobininwerte fanden J a y l e und B o u s s i e r (31), A l l i s o n , B l u m b e r g und R e e s (5) beim akuten rheumatischen Fieber. Zum Teil stark erhöhte Werte fanden K l u t h e und M ü l l e r (43) beim Morbus Bechterew und bei der chronischen Polyarthrit. M a t h i e s und Mitarbeiter (55) registrierten bei der chronischen Polyarthrit, und zwar sowohl bei destruktiven wie appositionellen Veränderungen, hohe Haptoglobinspiegel sowie übernormale Werte bei den entzündlich-degenerativen Mischformen der Arthrosis deformans. Andere Autoren wie L a c a p è r e und Mitarbeiter (46), P e r r i n i und R i z z i (66) kamen grundsätzlich zu ähnlichen Ergebnissen. Es steht also außer Zweifel, daß zwischen Abbauvorgängen am Stütz- und Bindegewebsapparat einerseits und deren Einfluß auf den Serum-Haptoglobinspiegel andererseits eine direkte Abhängigkeit besteht.
2. F r i c k e (15) fand im Bindegewebe aufgrund immunoelektrophoretischer Untersuchungen sechs Serumeiweißfraktionen wieder: Albumine, α_1 -Glykoproteide, α_1 -Seromukoid, Transferrin, γ -Globuline und Haptoglobine, letztere in relativ hoher Konzentration, wenngleich quantitative Unterschiede zwischen verschiedenen Gewebsarten je nach ihren funktionellen Aufgaben bestehen; so enthält z.B. die Achillessehne mehr der genannten Serumeiweißfraktionen als der Knorpel.

3. M a t h i e s und Mitarbeiter (56) untersuchten, ob sich durch experimentell erzielte Depolymerisationsvorgänge in der Grundsubstanz Haptoglobin freisetzen läßt, beziehungsweise durch vermehrte Bereitstellung der kohlenhydratreichen Komponente eine vermehrte Haptoglobinbildung erzielen läßt. Gesunden Probanden wurden unterschiedliche Mengen einer gereinigten Testes-Hyaluronidase (Kinetin^R) intramuskulär und intravenös injiziert. Vor und zu verschiedenen Zeiten nach Applikation innerhalb von 24 Stunden wurden Haptoglobinspiegelbestimmungen durchgeführt. Es zeigte sich, daß intramuskulär applizierte Hyaluronidase anscheinend dosisabhängig den Haptoglobinspiegel signifikant steigert. Dagegen übte die intravenös applizierte Hyaluronidase keinen sicheren Einfluß auf den Haptoglobinspiegel aus. Zur Begründung dieser Tatsache werden unspezifische Inhibitoren im Blut angenommen. R o b e r t , M e m b e l l o n i und C r o s t i (73) konnten an Kaninchenversuchen zeigen, daß hohe für den Menschen vergleichsweise unverträgliche intravenöse Hyaluronidaseinjektionen dennoch eine Steigerung des Haptoglobinspiegels bewirken können. - Schließlich sei noch auf die Untersuchungen von T h o m a s (90) hingewiesen, der beobachtete, daß tryptische Fermente, besonders Papain, das z.B. Chondroitinsulfat abbaut, eine steigende Wirkung auf den Haptoglobinspiegel hat.

4. N y m a n (64) und M a t h i e s (54) fanden in guter Übereinstimmung für den Anteil des Haptoglobins an den α_2 -Globulinen Werte von 24,2 % bzw. 23,9 %. Wenngleich M a t h i e s und Mitarbeiter (57) einerseits nachweisen konnten, daß es bei Haptoglobinspiegelerhöhungen nicht notwendigerweise zu einer α_2 -Globulinvermehrung kommen muß, sondern eher zu Relationsverschiebungen innerhalb der α_2 -Globuline zugunsten des Haptoglobins, so nehmen die genannten Autoren neben S c h u m a c h e r und S c h l u m b e r g e r (79), L o n g s w o r t h und Mitarbeitern (52), D o l e und Mitarbeitern (13) sowie vielen anderen Autoren an, daß Schwankungen der α_2 -Globuline in der

Elektrophorese fast ausschließlich Schwankungen des Haptoglobinspiegels zuzuordnen sind.

5. Die Zusammenhänge zwischen Haptoglobin- und Fibrinogenspiegel erscheinen keineswegs gesichert. Zwar fanden *J a y l e* und *B o u s s i e r* (32, 31, 35) gewisse Zusammenhänge zwischen Haptoglobin-, Orosomukoid- und Fibrinogenspiegel, jedoch wurde statt einer quantitativen Fibrinogenbestimmung die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit zugrunde gelegt. *R u h e n s t r o h - B a u e r* und sein Arbeitskreis (76, 62) haben gezeigt, daß die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit nicht nur durch Fibrinogen, wie früher angenommen, sondern außerdem durch eine Reihe anderer Plasmafaktoren, die unter der Bezeichnung "Agglomérine" zusammengefaßt werden, beeinflußt wird. Hierzu gehört z.B. neben Fibrinogen, Coeruloplasmin und γ -Globulin auch das Haptoglobin, wobei letzteres je nach Typus eine unterschiedliche Senkungsaktivität aufweist: Hp2-2 senkt stärker als Hp1-1. *N y m a n* (64) sowie *J a y l e* und *M o r e t t i* (36) bestimmten das Fibrinogen direkt quantitativ und stellten Zusammenhänge zwischen Haptoglobin- und Fibrinogenspiegel fest. *M a t h i e s* (57) fand dagegen lediglich eine gewisse Korrelation dieser beiden Substanzen bei Betrachtung der Mittelwerte.

Eigene Überlegungen:

Da durch künstlich erzeugte Depolymerisationsvorgänge im Bindegewebe anscheinend eine Erhöhung des Haptoglobinspiegels erzielt werden konnte, erscheint es in diesem Zusammenhänge interessant, den Beobachtungen über die Korrelationen zwischen Haptoglobin- und Fibrinogenspiegel folgend, parallel zu den quantitativen Haptoglobinbestimmungen den Fibrinogenspiegel festzustellen. In Abhängigkeit vom Ergebnis wäre dann möglicherweise der alten Frage von der Haptoglobin-Fibrinogen-Relation ein weiterer, nicht unwesentlicher Aspekt hinzuzufügen.

Neben diesen beiden Grunduntersuchungen erscheint die Kontrollmaßnahme angebracht, parallel dazu die Seren der Elektrophorese zu unterwerfen, um etwaige Veränderungen des Haptoglobinspiegels in entsprechenden Relativprozentwert-Schwankungen der α_2 Globuline "wiederzufinden".

K. Methodik

1. Untersuchungsgut, Arbeitsgang

Die Seren bzw. Plasmen von 5 gesunden Probanden wurden der quantitativen Haptoglobin- und Fibrinogenbestimmung sowie der Elektrophorese unterworfen.

Um eine Vorstellung von den physiologischen Schwankungen zu gewinnen, wurden die Leerwerte doppelt, d.h. an zwei aufeinanderfolgenden Tagen, bestimmt. Am 3. Tag wurde jedem Probanden, der Dosierung von M a t h i e s und Mitarbeitern (56) folgend, 2400 I.E. einer gereinigten Testes-Hyaluronidase (Kinetin^R) tief intraglutäal injiziert. 24 und 48 Stunden post injectionem wurde Blut zur Haptoglobin- und Fibrinogenbestimmung und zur Elektrophorese entnommen.

Keiner der Probanden registrierte allgemeine oder lokale Unverträglichkeitserscheinungen.

2. Quantitative Haptoglobinbestimmung

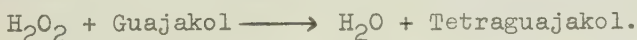
a) Grundsätzliches zur Methodik

Zur Zeit stehen eine Reihe von Methoden zur quantitativen Haptoglobinbestimmung zur Verfügung. Sie beruhen meist auf dem schon erwähnten Prinzip der Fähigkeit des Haptoglobins, mit Hämoglobin stöchiometrisch zu reagieren und dabei die Peroxydaseaktivität des Hämoglobins beträchtlich zu steigern. - Zur Orientierung seien die von verschiedenen Autoren ausgearbeiteten Methoden kurz gegenübergestellt.

1. **L a u r e l l** und **N y m a n** (50, 64) haben eine elektrophoretische Bestimmungsmethode angegeben. Sie beruht auf der Tatsache, daß der Hämoglobin-Haptoglobin-Komplex gegenüber dem freien Hämoglobin eine größere Wanderungsgeschwindigkeit besitzt. Dadurch ist eine Trennung möglich. Es werden gleiche Mengen des zu untersuchenden Serums zu einer Verdünnungsreihe einer HämoglobinstammLösung bekannter Konzentration zugegeben. Die Hämoglobinkonzentration der Einzelösungen ist also bekannt. Diese Lösungen werden nun im einzelnen der Papierelektrophorese in einem Phosphatpuffersystem mit pH= 7,0 unterworfen. Als Farbreagenz dient leucomalachitgrün. Bestimmt wird die Hämoglobinkonzentration, bei der bei Serumzugabe kein freies Hämoglobin mehr nachweisbar ist, mithin also die Hämoglobinbindungskapazität.

(Hb B C in mg/100 ml) Die Hämoglobinbindungskapazität ist definiert durch die Menge Hb in mg, die durch das in 100 ml Serum enthaltene Haptoglobin gebunden werden kann.

2. **C o n n e l l** und **S m i t h i e s** (12) arbeiteten folgende Methode aus: Zu dem zu untersuchenden Serum wird Hämoglobinlösung im Überschuß gegeben. Der gebildete Hb-Hp-Komplex katalysiert die Reaktion:



Diese Reaktion verläuft je nach der Menge des vorhandenen Hb-Hp-Komplexes verschieden schnell. Die Reaktionsgeschwindigkeit, die photometrisch an Hand der Tetraguajakolbildung verfolgt wird, ist das Maß für den Serumhaptoglobingehalt.

Da die Peroxydaseaktivität des im Überschuß vorliegenden Hämoglobins verhältnismäßig klein ist, wird sie in dieser Methode vernachlässigt.

3. J a y l e (29) gibt unter anderem die Sättigungsmethode an: zu einer konstanten Menge einer Pferdehämoglobinlösung bekannter Konzentration werden steigende Volumina des zu untersuchenden Serums gegeben. Entsprechend der Hb-Hp-Komplexbildung steigt die Peroxydaseaktivität mit größer werdender Serummenge bis zu dem Punkte, an dem das Hämoglobin mit Haptoglobin gesättigt ist. Die Hämoglobinbindungskapazität (HbBC) errechnet sich dann aus der geringsten Menge Serum, mit der eine maximale Peroxydaseaktivität erreicht wird, und der verwendeten Hämoglobinmenge nach folgender Formel:

$$\text{HbBC mg/100 ml} = \frac{\text{Hb mg} \times 100}{\text{Serum ml}}$$

Die Bestimmung der Peroxydaseaktivität erfolgt jodometrisch (siehe unter 5.).

4. Die Methode von K l e i n und K n ü c h e l (41) kommt, wohl wegen ihrer größeren Fehlerquellen, weniger zur Anwendung. Hierbei wird das Starkegelelektrophorese-diagramm direkt photometrisch ausgewertet, ähnlich wie bei der Serum-Papierelektrophorese.

5. In den vorliegenden Untersuchungen kam die Aktivierungsmethode von J a y l e (27, 28, 29), nach M a t h i e s (57) gering modifiziert, zur Anwendung. Sie sei daher eingehend besprochen:

Die Aktivierungsmethode beruht ebenfalls auf dem Prinzip der Fähigkeit des Haptoglobins, stöchiometrisch mit Hämoglobin zu reagieren und dabei die Peroxydaseaktivität des Hämoglobins beträchtlich zu steigern. Durch Messung der Peroxydaseaktivität kann die Menge des Hb-Hp-Komplexes bestimmt werden. Es wird so vorgegangen, daß nach Sättigung des Haptoglobins in einer bestimmten Serummenge mit

Pferdehäemoglobin Äthylhydroperoxyd zugegeben wird, das durch den entstandenen Hb-Hp-Komplex in Sauerstoff und Äthylalkohol gespalten wird. Nach Aufnahme zweier Elektronen von zwei Jodidionen aus einer zugegebenen Jodidlösung durch das freigesetzte Sauerstoffatom entsteht durch Oxydationen elementares Jod. Es wird also durch die Peroxydaseeigenschaft des Hb-Hp-Komplexes folgende chemische Reaktion katalysiert:



Die durch Titration mit Natriumthiosulfat unter Benutzung von Stärke als Indikator ermittelte frei gewordene Jodmenge ist direkt proportional der Menge des die Reaktion katalysierenden Komplexes. Die zur Titration benötigte Menge Natriumthiosulfat ist also ein Maß für den Haptoglobingehalt des titrierten Serums.

b) Reagenzien und Lösungen:

a) Pferdehäemoglobinlösung: 0,085 g Pferdehäemoglobin (Scheering) wird in 100 ml Aqua dest. gelöst. Aufbewahrung der Lösung im Kühlschrank ist etwa eine Woche lang möglich.

b) Kaliumjodidlösung: 0,1 molare Kaliumjodidlösung (16,6 g Kaliumjodid pro 1 Liter Aqua dest.). Aufbewahrung in dunkler Flasche.

c) Acetatpufferlösung: pH 4,4 0,1 normal: 635 ml 0,1 n Essigsäure + 365 ml 0,1 n Natriumacetatlösung.

d) Äthylhydroperoxydlösung 0,11 normal: Herstellung aus konzentrierter Lösung (AB Ferrosan, Malmö). Wegen des hohen Preises des Äthylhydroperoxyd erscheint die Bemerkung wesentlich, daß für ein Schälchen 1 ml der 0,11 n Äthylhydroperoxydlösung verbraucht werden. Man sollte also höchstens wenig mehr aus der Stammlösung herstellen als für den Versuchsansatz benötigt wird. Die mit Aqua dest. verdünnte Lösung kann im Kühlschrank für etwa 2 Tage aufbewahrt werden. Wiederholte Bestimmung der Normalität der konzentrierten Lösung ist erforderlich und geschieht folgendermaßen:

0,1 ml Äthylhydroperoxyd + 2 ml Kaliumjodidlösung (20g/100 ml) + 2 Tropfen Eisessig läßt man 4 Stunden in einer Porzellanschale stehen. Dann wird mit 0,05 Natriumthiosulfatlösung titriert. Die Berechnung der Normalität der Äthylhydroperoxydstammlösung geschieht dann nach der Formel

$$x = \frac{0,05 \cdot \text{Titrationwert}}{0,1}$$

e) Jodlösung: Die 1n Stammlösung (in dunkler Flasche aufbewahren) wird vor Gebrauch auf 0,01 Normalität verdünnt. Die unverdünnte Lösung hält sich im Dunkeln bei +4°C etwa 2-3 Tage.

f) Natriumthiosulfatlösung 0,01 n : eine 0,1 n Stammlösung (in dunkler Flasche aufbewahren) wird vor Gebrauch auf 0,01 n verdünnt.

g) Stärkelösung: 0,5%ig als Indikator: 0,5g Stärke auf 100 ml Aqua dest. Kurzes Kochen und kräftiges Schütteln der Lösung. Aufbewahren im Kühlschrank.

c) Apparative Ausrüstung:

h) Wasserbad mit Thermostat (Köttermann). Darin PVC-Einsatz (Sonderanfertigungen) mit halben Eiereinkaufsbehältern aus durchsichtigem Material. Wassertemperatur 32°C.

i) Automatische Bürette für 10 ml auf schwenkbarem Stativ (Sonderanfertigung).

d) Durchführung der Bestimmung:

Die im Wasserbad liegenden Schälchen (h) werden mit 0,1 ml der Hämoglobinlösung (a) und - mit Ausnahme der beiden ersten, die zur Bestimmung des Leerwertes von Hämoglobin dienen - mit 0,02 ml hämolysefrei gewonnenen, gleich danach eingefrorenen und vor der Untersuchung wieder aufgetauten Serums beschickt. Danach werden jedem Schälchen 3 ml Kaliumjodidlösung (b) beigegeben. Daraufhin wird jedem Schälchen 10 ml eines Gemisches aus 100 ml Acetatt-pufferlösung (c), 10 ml Jodlösung 0,01 n (e) und 10 ml Äthylhydroperoxydlösung (d) (Gemisch nur etwa 20 min.

verwendungsfähig) in Abständen von 60 sec. zugefügt. Nach 10 1/2 min. (vom Beschicken des 1. Schälchens an gerechnet) beginnt die Titration mit Natriumthiosulfatlösung (f). Zuvor gibt man 3 Tropfen Stärkelösung (g) hinzu. Die Titration muß jeweils nach 30 sec. beendet sein, so daß sie die nach 11 min. freigesetzte Menge Jod ermittelt. 60 sec. nach Beginn der Titration des 1. Schälchens beginnt die 2. Titration usw. Die Menge des bei der Titration verbrauchten Natriumthiosulfates abzüglich der Menge, die zur Titration der ersten Schälchen ohne Serum (Hämoglobin-Leerwert) benötigt wird, stellt den Titrationswert dar. Vom Leerwert und von jedem Serum wurden Doppelbestimmungen durchgeführt. Wenn sich in seltenen Fällen die Titrationswerte um mehr als 0,05 ml unterschieden, wurde der Versuch wiederholt, ansonsten wurde der Mittelwert der Auswertung zugrunde gelegt.

e) Auswertung:

Aus dem Titrationswert ist der Haptoglobin-Index zu errechnen, der durch die Menge 0,01 n Jodlösung in ml definiert ist, die durch Einwirkung von 0,05 ml Serum in 5 min. frei wird. Da wir bei unserer Versuchsanordnung mit 0,02 ml Serum statt 0,05 ml Serum arbeiteten, war der Titrationswert zunächst mit dem Faktor 2,5 zu multiplizieren. Da wir außerdem aus methodischen Gründen (Untersuchung von jeweils 10 Schälchen in einem Untersuchungsgang) 11 min. statt 5 min. inkubierten, war ein weiterer Umrechnungsfaktor zu berücksichtigen, der sich aus der Berechnung eines Vergleichsversuches beider Inkubationszeiten ergab und 0,5224 betrug. Insgesamt ergab sich damit ein Faktor von 1,306, mit dem der Titrationswert zu multiplizieren war, um den Haptoglobinindex zu erhalten. Aus dem Haptoglobinindex ist wiederum der absolute Haptoglobingehalt in mg/100 ml Serum unter Berücksichtigung der Molekulargewichte des Hämoglobins und Haptoglobins durch Multiplikation mit dem Faktor 106,25 nach folgender Formel zu errechnen:

$$\frac{\text{Hp-Index} \times 85000 \times 100}{80000} = \text{Hp-Index} \times 106,25 = \text{Hp mg\%}$$

3. Fibrinogenbestimmung:

Prinzip:

Fibrinogen wird durch Zugabe von Ca^{++} -Ionen aus dem Citratplasma als Fibrin gefällt. Die vom Serum befreite gewaschene und getrocknete Fibrinflocke wird gewogen.

Reagenzien:

3,8%ige Natriumcitrat-Lösung

$\frac{n}{40}$ Calciumchlorid-Lösung

Äther

Azeton

Durchführung:

9 Teile Blut werden mit 1 Teil der 3,8%igen Natriumcitrat-Lösung versetzt. Nach Zentrifugieren wird 5 ml des überstehenden Plasmas abpipettiert, mit der gleichen Menge einer $\frac{n}{40}$ Calciumchlorid-Lösung versetzt und 15 Min. bei 37°C im Wasserbad erwärmt. In die Lösung wird ein Glasstab eingebracht und nach 2 Min. solange gerührt, bis sich nichts mehr von dem gebildeten Gerinnsel aufwickeln läßt. Nochmals 15 Min. stehen lassen und die restlichen Gerinnsel aufwickeln. Darauf wird der Glasstab mit der anhaftenden Fibrinflocke zweimal je 5 Min. in Aqua dest. getaucht. Anschließend Gerinnsel zusammenschieben und nochmals etwa 5 Min. in Aqua dest. waschen. Danach kurz in Äteton und anschließend in Äther tauchen. Gerinnsel sofort vom Glasstab lösen und in ein Uhrglasschälchen legen. 24 Stunden im Brutschrank trocknen und dann wiegen.

Berechnung:

Der gefundene Wert wird durch 9 dividiert. Diesen 9. Teil zum gefundenen Wert addieren. Von den verwendeten 5 ml Plasma auf 100 ml umrechnen.

Normalwert:

200-600 mg %

4. Papierelektrophorese:

Da die Elektrophorese nur als zusätzliche Kontrolluntersuchung durchgeführt wurde, würde eine eingehende Besprechung der Methodik den Rahmen dieser Arbeit überschreiten. Es soll daher nur auf Grundsätzliches eingegangen werden. Im Übrigen sei auf die einschlägige Literatur (94, 23, 45) hingewiesen.

"In der Medizin versteht man unter Elektrophorese allgemein die Fortbewegung kolloidaler Teilchen in einem elektrischen Feld. Die Wanderungsrichtung der Proteinteilchen wird von der Wasserstoffionenkonzentration des sie umgebenden Milieus bestimmt" (nach Müller - Seifert (45), S. 361). Am sogenannten isoelektrischen Punkt, einem bestimmten charakteristischen pH-Wert (siehe W u h r m a n n - W u n d e r l y (94), S. 102), liegen die Proteine, entsprechend ihrer Ampholytnatur, als Zwitterionen vor, d.h. die Ladungen der negativen -COO^- -Gruppen werden gerade durch die Ladungen der positiven -NH_3^+ -Gruppen aufgehoben. Entsprechend dem Massenwirkungsgesetz wird die Abdissoziation von H^+ -Ionen durch Säurezusatz zurückgedrängt, das Protein verhält sich dann wie eine Base, ist also positiv geladen und würde in einem elektrischen Feld zur Kathode wandern. Umgekehrt wäre es bei Laugenzusatz. Um das Protein nun in einer bestimmten Ladung vorliegen zu haben, wird meist ein pH von 7,9 bis 8,6 verwendet, am günstigsten Veronal-Na-Puffer bei pH 8,6.

In Form der Papierelektrophorese nach G r a s s m a n n und H a n n i g (23) steht der klinischen Laboratoriumsdiagnostik eine relativ einfache und hinreichend genaue Methode zur Aufteilung der verschiedenen Serum-Proteinfractionen zur Verfügung. Hierbei wird das Serum, das ja ein Gemisch verschiedener Proteinkörper darstellt, aufgrund deren verschiedener Wanderungsgeschwindigkeit im elektrischen Felde in seine Einzelfractionen zerlegt. Als Trägermaterial

dient Filtrierpapier, die Auftrennung erfolgt bei pH 8,6 (Veronal-Na-Puffer) in eigens dazu hergestellten Elektrophoresekammern (Apparat Elphor-H der Fa. Bender und Hobein, München) mit einer Gleichspannung von 110 Volt. Die fertigen Elektropherogramme werden mit Amidoschwarz gefärbt, worauf sich die charakteristischen Streifen der Albumine, α_1 -, α_2 -, β - und γ -Globuline zeigen. Im Anschluß erfolgt nach geeigneter Präparation photometrische Auswertung der Einzelfractionen und deren Darstellung in einer Verteilungskurve, die wiederum planimetrisch oder mit dem von der Firma Bender und Hobein gelieferten "Integraphen" nach Einzeichnen der Gaußschen Kurven quantitativ ausgewertet werden. Die erhaltenen Planimeterwerte werden dann in Relativprozentzahlen umgerechnet. Als Normwerte gelten:

Albumine	: über 50%
α_1 -Globuline	: 2-6%
α_2 -Globuline	: 6-10%
β -Globuline	: 10-14%
γ -Globuline	: 15-22%

Kennt man den Gesamteiweißgehalt des betreffenden Serums in g%, so kann man aus den gefundenen Relativwerten die Absolutwerte ausrechnen.

• Ergebnisse:

1. Haptoglobulinwerte: Die gefundenen Leer-Mittelwerte betrugen 130,63 mg%, 158,88 mg%, 119,33 mg% und 118,64 mg%.

In einem Falle konnte aus technischen Gründen nur ein Leerwert (151,25 mg%) ermittelt werden. Die am 2. Tage bestimmten Kontroll-Leerwerte wichen vom Vortage um 0 bis maximal 4,27 % ab.

24 Stunden nach intramuskulärer Injektion von 2400 I.E. Hyaluronidase stiegen die Haptoglobulinwerte in vier Fällen geringfügig an, maximal um 4,1 %. In einem Falle war ein Absinken um 5,52 % gegenüber dem ermittelten Leerwert festzustellen.

48 Stunden post. inject. war in allen Seren ein geringfügiger Abfall der Werte gegenüber dem gemittelten Leerwert zu verzeichnen, und zwar um 1,75 % bis 5,68 %.

2. Fibrinogenwerte: Die Leer-Mittelwerte betrugen: 265,7 mg%, 255,8 mg%, 203,3 mg%, 247,5 mg% und 143,0 mg%. Die am 2. Tage bestimmten Kontroll-Leerwerte wichen vom Vortagswert um 0 bis maximal 7,41 % ab.

24 Stunden nach Injektion von 2400 I.E. Hyaluronidase stiegen in drei Fällen die Werte gegenüber dem gemittelten Leerwert bis maximal 9,66 % an, in zwei Fällen sanken sie bis maximal 2,22 %.

48 Stunden post inject. waren bei 4 Plasma-Proben Anstiege bis maximal 34,5 % festzustellen. Die Bestimmung der 5. Probe fiel aus technischen Gründen aus.

3. Elektrophorese: Die Werte für die α_2 -Globuline lagen alle im Normbereich.

Pro- band	Leerwerte		Nach i.m.Injektion von 2400 I.E. Hyal.'ase	
	1. Tag	2.Tag	24 Std.p.i.	48 Std. p.i.
	133,21 mg%	128,05 mg%	135,98 mg%	128,05 mg%
BR	Mittelwert: 130,63 mg% Leerwertschwankung: absolut: -5,16 mg% prozentual: -3,87%		Änderung v.mittl.Leerwert u abs.: +5,35 mg% proz.: +4,1%	-2,58 mg% -1,98%
	162,35 mg%	155,41 mg%	160,96 mg%	149,86 mg%
FR	Mittelwert: 158,88 mg% Leerwertschwankung: absolut: 6,94 mg% prozentual: 4,27 %		Änderung v.mittl.Leerwert u abs.: +2,08 mg% proz.: +1,31%	-9,02 mg% -5,68%
	119,33 mg%	119,33 mg%	123,50 mg%	116,56 mg%
HK	Mittelwert: 119,33 mg% Leerwertschwankung: absolut: 0,0 prozentual: 0,0		Änderung v.mittl.Leerwert u abs.: +4,17mg% proz.: +3,49mg%	-2,77 mg% -2,32%
		151,25 mg%	142,92 mg%	148,47 mg%
HZ	Mittelwert: 151,25 mg% Leerwertschwankung: absolut: prozentual:		Änderung v.mittl.Leerwert u abs.: -8,33mg% proz.: -5,52%	-2,78 mg% -1,84%
	117,95 mg%	119,33 mg%	120,72 mg%	116,56 mg%
U	Mittelwert: 118,64 mg% Leerwertschwankung: absolut: 1,38 mg% prozentual: 1,17 %		Änderung v.mittl.Leerwert u abs.: +2,08mg% proz.: 1,75%	-2,08 mg% -1,75%

Tab. 2: Verhalten des Serum-Haptoglobin-Spiegels auf intra-
muskuläre Injektion von 2400 I.E. Hyaluronidase.

Pro- band	Leerwerte		Nach i.m.Injektion von 2400 I.E. Hyal.'ase	
	1.Tag	2. Tag	24 Std.p.i.	48 Std.p.i.
	272,8 mg%	258,5 mg%	264,0 mg%	281,6 mg%
BR	Mittelwert: 265,7 mg% Leerwertschwankung: absolut: 14,3 mg% prozentual: 5,24 %		Änderung v.mittl.Leerwert um abs.: -1,7 mg% +15,9mg% proz.: -0,64% +6%	
	264,0 mg%	247,5 mg%	280 mg%	
FR	Mittelwert: 255,8 mg% Leerwertschwankung: absolut: 16,5 mg% prozentual: 6,25 %		Änderung v.mittl.Leerwert um abs.: +24,2mg% proz.: +9,66%	
	203,3 mg%	203,3 mg%	206,2 mg%	203,5 mg%
HK	Mittelwert: 203,3 mg% Leerwertschwankung: absolut: 0,0 mg% prozentual: 0,0 %		Änderung v.mittl.Leerwert um abs.: +2,9 mg% +0,2 mg% proz.: +1,43% +0,19 %	
	247,5 mg%	247,5 mg%	242,0 mg%	268,6 mg%
HZ	Mittelwert: 247,5 mg% Leerwertschwankung: absolut: 0,0 mg% prozentual: 0,0 %		Änderung v.mittl.Leerwert um abs.: -5,5 mg% +21,1 mg% proz.: -2,22% +8,55 %	
	148,5 mg%	137,5 mg%	148,5 mg %	192,5 mg%
LI	Mittelwert: 143,0 mg% Leerwertschwankung: absolut: 11,0 mg% prozentual: 7,41 %		Änderung v.mittl.Leerwert um abs.: +5,5 mg% +49,5 mg% proz.: +3,85 % +34,5 %	

Tab. 3: Verhalten des Fibrinogen-Spiegels auf intramuskuläre Injektion von 2400 I.E. Hyaluronidase.

	Leerwerte		Nach i.m. Injektion von 2400 I.E. Hyal.'ase	
	1.Tag	2.Tag	24 Std.p.i.	48 Std. p.i.
BR	6,2 %	8,0 %	7,8 %	7,5 %
FR	9,9 %	9,3 %	9,2 %	10,5 %
HK	5,5 %	7,4 %	6,4 %	6,1 %
HZ		8,1 %	9,5 %	6,4 %
LI	6,0 %	5,4 %	6,3 %	6,2 %

Tab. 4: Verhalten der α_2 -Globuline in Relativ-%-Werten der Elektrophorese auf intramuskuläre Injektion von 2400 I.E. Hyaluronidase.

M. Diskussion:

Die Haptoglobulin-Leerwerte lagen meist etwas höher als die in der Literatur angegebenen Normwerte. Bis auf einen Fall lagen die Fibrinogenwerte im Bereich der Norm. Auch die α_2 -Globuline zeigten normale Werte. 24 Stunden nach Injektion ergaben die Haptoglobulin- und Fibrinogenwerte gegenüber den ermittelten Leerwerten keine eindeutigen Abweichungen.

Ähnlich verhält es sich mit den Haptoglobulinwerten, die 48 Stunden post inject. von 2400 I.E. Hyaluronidase bestimmt wurden. Hingegen erscheinen die Fibrinogenwerte 48 Stunden post inject. alle etwas höher als der Leer-Mittelwert und die prozentuale Rate des Anstiegs lag ebenfalls meistens höher als die prozentuale Leerwertschwankung, in einem Falle sogar 34,5 %. In Entsprechung zu den nur geringfügigen Veränderungen der Haptoglobulinwerte bleiben die Relativ-Prozentwerte der α_2 -Globulinfraktion uncharakteristisch und brauchen hier nicht näher erwähnt zu werden.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von M a t h i e s und Mitarbeitern (56), die 24 Stunden nach Injektion von 2400 I.E. Hyaluronidase einen Anstieg des Haptoglobinspiegels um 50 % des Leerwertes fanden, konnten in den vorliegenden Untersuchungen keine verwertbaren Veränderungen registriert werden. Die parallel dazu bestimmten Fibrinogenwerte lassen daher keine Aussage dahingehend zu, ob, den Untersuchungen von J a y l e und B o u s s i e r (32, 31, 35), N y m a n (64), J a y l e und M o r e t t i (36) zufolge, eine Abhängigkeit zwischen Haptoglobulin- und Fibrinogenspiegel besteht.

N. Zusammenfassung:

1. Es wird eine Übersicht über den derzeitigen Stand der Haptoglobinforschung gegeben.
2. Die Zusammenhänge, die zwischen Haptoglobinspiegel des Serums und Vorgängen bzw. Veränderungen im Bindegewebe bestehen, werden aufgezeigt.
3. Es werden eigene Untersuchungen mitgeteilt, die bezweckten, Einzelheiten über den Zusammenhang zwischen Serum-Haptoglobinspiegel und Fibrinogenspiegel unter der Wirkung künstlich herbeigeführter Depolymerisationsvorgänge im Bindegewebe mittels Hyaluronidase zu erfahren.
4. Es konnte nach 24 und 48 Stunden keine eindeutige Steigerung des Serum-Haptoglobinspiegels auf intramuskuläre Hyaluronidaseapplikation festgestellt werden.
5. Neben den ermittelten Haptoglobinwerten bleiben die Fibrinogenwerte sowie die Werte der α_2 -Globuline in der Papierelektrophorese ebenfalls relativ uncharakteristisch. Lediglich der Fibrinogenspiegel zeigte 48 Stunden nach Hyaluronidaseapplikation eine Steigerung.
6. Die eigenen Ergebnisse werden mit denen des bisher vorliegenden Schrifttums verglichen.

0. Literaturverzeichnis

1. Allison, A.C.: The genetical and clinical significance of the haptoglobins.
Proc.Royal Soc.Med. London 51:641, 1958
2. Allison, A.C.: Diskussionsbemerkung.
Proc. 8th Congr. Europ.Soc.Haemat. 1961
3. Allison, A.C.: Genetic control of the human haptoglobin synthesis.
Nature 183:1312, 1959
4. Allison, A.C.: Haptoglobins.
Blut 5:201, 1959
5. Allison, A.C.; Blumberg, B.S.,
Rees, W.: Haptoglobintypes in British,
Spanish, Basque and Nigerian African
populations.
Nature 181:824, 1958
6. Allison, A.C. and Rees, W.: The binding
of hemoglobin by plasma proteins (haptoglobins),
Brit.med.J. 11:1137, 1957
7. Ammon, R. und Dirscherl, W.: Fermente,
Hormone, Vitamine, Bd. 1
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1959, 3. Auflage
8. Baitzsch, H. und Liebrich, K.G.: Die
Haptoglobintypen, Methodik ihrer Bestimmung;
Allelenhäufigkeit in eigenen Stichproben.
Blut 7:27, 69, 1961
9. Borglin, N.E., Nyman, M.: Effect of estro-
gens on the haptoglobin level in the blood.
Scand.J.clin.Lab.Invest. 13:107, 1961
10. Burtin, P., Grabar, P., Boussier, G.,
Jayle, M.F.: Etude immunoclinique de
l'haptoglobine.
Bull.Soc.biol. (Paris) 36:1029, 1954
11. Chevallier, P. und Wolpe, R.: La valeur
de l'haptoglobine dans les maladies du sang.
Sang 16:327, 1945
12. Connell, G.E. and Smithies, O.: Human
haptoglobins: estimation and purification.
Biochem.J. 72:115, 1959
13. Dole, V.P., Watson, R.F., Rothbard, S.,
Braun, E., and Winfield, K.:
Electrophoretic changes in the serum protein
patterns of patients with scarlet fever and
rheumatic fever.
J.clin.Invest. 24:648, 1945

14. F a l k , H.: Die Veränderung des Haptoglobinspiegels bei Krankheiten.
siehe P r o k o p und B u n d s c h u h ,
S. 110-128, 1963
15. F r i c k e , R.: Immunoelktrophoretische Untersuchungen über Eiweißkörper der Kittsubstanz.
Zeitschr.Rheumaforsch. 19, Heft 9-10.Okt.1960
16. G a l a t i u s - J e n s e n , F.: On haptoglobins in relation to age and disease.
Vortrag auf dem 4. Congress of Haematology Copenhagen, 1957
17. G a l a t i u s - J e n s e n , F.: The haptoglobins - a genetical study.
Dansk Videnskabs Forlag, Kobenhavn, 1960
18. G a l a t i u s - J e n s e n , F.: On the genetics of the haptoglobins.
Acta genetica 8:232, 1958
19. G a l a t i u s - J e n s e n , F.: Rare phenotypes in the Hp-system.
Acta genetica 8:248, 1958
20. G a r b y , L.: Kolloquiums - Vortrag.
Proc.8th Congr.Europ.Soc.Haemat. 1961
21. G a r b y L. and N o y e s , W.D.: Studies on hemoglobin metabolism: The kinetic properties of plasma hemoglobin pool in normal man.
J.clin.Invest. 38:1479, 1959
22. G i b l e t t , E.R., S t e i n b e r g , J.G.: The inheritance of serum haptoglobin types in american negroes: Evidence for a third allele Hp^{2m}.
Amer.J.Hum.Gen. 12:160, 1960
23. G r a s s m a n n , W., H a n n i g , K.: Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese.
Hoppe Seyler's Zeitschr.Physiol.Chem.290:1.1952
24. G u i n a n d , S., T o n n e l a t , J., B o u s s i e r , J. et J a y l e , M.F.: Propriétés physiques de l'haptoglobine, seromucoides- α_2 et de sa combinaison hémoglobinique.
Bull.Soc.Chim.biol. (Paris) 38:329, 1956
25. H e r m a n - B o u s s i e r , G., M o r e t t i , J. et J a y l e , M.F.: Etude de l'haptoglobin II. Propriétés physiques et chimiques des Haptoglobines des types I et II et de leurs complexes avec l'hémoglobine.
Bull.Soc.Chim.biol. (Paris) 42:837, 1960

26. H i r s z f e l d , L.: Probleme der Blutgruppen-
forschung.
Fischer, Jena 1960
27. J a y l e , M.F.: Evaluation moleculaire de l'haptoglo-
bine par une réaction encymatique de peroxy-
dation.
C.R.Acad.Sci. (Paris) 211:574, 1940
28. J a y l e , M.F.: Les modifications biochimiques et
physiochimiques du plasma sanguin au cours
de l'infection.
Exp.ann.Biochim.méd. 3:162, 1942
29. J a y l e , M.F.: Methode de dosage de l'haptoglobine
serique.
Bull.Soc.Chim.biol. (Paris) 33:876, 1951
30. J a y l e , M.F., B a d i n , J.: Constitution chimique
et électrophorese de l'haptoglobine.
C.R.Soc.Biol. (Paris) 144:1475, 1950
31. J a y l e , M.F. et B o u s s i e r , G.:
Les seromucoides du sang, leurs relations
avec mucoprotéines de la substance fondamentale
du tissu conjonctif.
Expos.ann.Biochim.méd. 17:157, 1955
32. J a y l e , M.F. et B o u s s i e r , G.:
Isolement à l'état pur de l'haptoglobine,
mucoprotéine- α_2 du sérum, propriétés et
intérêt clinique.
Presse med. 62:1752, 1954
33. J a y l e , M.F. et B o u s s i e r , G.:
Obtention à l'état homogène d'une mucoprotéine
sérique, l'haptoglobine.
Bull.Soc.Chim.biol. 36:959 Paris 1954
34. J a y l e , M.F., B o u s s i e r , G. et B a d i n , J.:
Electrophorèse de l'haptoglobine et de son
complexe hemoglobinique.
Bull.Soc.Chim.biol. (Paris) 34:1063, 1952
35. J a y l e , M.F., B o u s s i e r , G. et B a t i a s ,
M.J.: Relations entre les taux de l'haptoglo-
bine celui des globines- α_2 et des mucopoly-
saccharides circulants en pathologie.
C.R.Soc.biol. (Paris) 149:46, 1955
36. J a y l e , M.F. and M o r e t t i , J.:
Haptoglobin, biochemical, genetic and physio-
pathologie aspects.
Progr.Hemat. 3:342, 1962
37. J a y l e , M.F., S e r p i c e l l i , J. et
R o b e r t , L.: Etude polarographique des
mucoides, sulfosalicylosolubles du sérum sanguin.
Clin.Chim.Acta 1:452, 1956

38. J a y l e , M.F. et V a l l i n , J.: Variations de
formule protéinique du plasma au cours de
affections hépatiques.
Sém.Hop (Paris) 28:3133, 1952
39. K a h l i c h - K o e n n e r , D.M.: Über die Hapto-
globinbestimmung und ihre Anwendung im Vater-
schaftsprozeß.
Wiener Med.Wschr. 110:492, 1960
40. K a h l i c h - K o e n n e r , D.M. und W e i p p l ,
G.: Haptoglobingruppen beim Neugeborenen.
Wiener Klin.Wschr. 72:674, 1960
41. K l e i n , H. und K n ü c h e l , F.: Papierelektro-
phoretische Bestimmung der Haptoglobingruppen
des Menschen.
Dtsch.Zeitschr.f.gerichtl.Med. 50:278, 1960
42. K l u t h e , R. und I s l i c k e r , H.:
Isolierung von Serumhaptoglobinen als Hapto-
globin-Hämoglobin-Komplex durch Zinkfällung
und Säulenchromatographie.
Helv.Physiol.Pharmacol.Acta 18:404, 1960
43. K l u t h e , R. und M ü l l e r , W.: Veränderungen
der α -Globulin-Unterfraktionen bei chron.
Polyarthritis.
Atti del X. Congr. della tega Internat. control
il Rheumatismo, Vol. II, Rom 1961, p. 185
44. K l u t h e , R. und M e y e r , P.: Bestimmung des
 α_2 -Haptoglobinspiegels bei Nierenerkrankungen.
Klin.Wschr. 39:205, 1961
45. v. K r e s s , H.: Müller-Seifert's Taschenbuch der
med.-klin.Diagnostik. 68. Auflage.
Bergmann Verlag, München 1962. S. 361: Elek-
trophorese, S. 387: Normalwerte
46. L a c a p è r e , J., B a d i n , J., R e n i e r ,
J.C., W e i s s e n b a c h , R. et
B a s s e t , G.: Vitesse de sédimentation des
hématies, réaction de Vernes à la résorcine
indice d'haptoglobine au cours de rhumatismes.
Rev.Rhum. 24:690, 1957
47. L a u r e l l , C.B.: Serumproteine und Eisentransport.
in: "Eisenstoffwechsel", Herausg. v. Keiderling,
S. 103-111,
Thieme-Verlag, Stuttgart, 1959
48. L a u r e l l , D.B.: Purification and properties of
different haptoglobins.
Clin.Chim. Acta 4:79, 1959
49. L a u r e l l , D.B. und N y m a n , M.: Haptoglobin
als Hämoglobintransporteur im Plasma.
in Peeters: Protides of the biological fluids,
p. 196, Amsterdam 1958

50. L a u r e l l , C.B., N y m a n , M.: Studies on the serum haptoglobin level in hemoglobinemia and its influence on renal excretion of hemoglobin. Blood 12:493, 1957
51. L e u t h a r d t , F.: Lehrbuch der physiologischen Chemie. 14. Auflage, Walter de Gruyter u. Co. Verlag, Berlin 1959
Hyaluronsäure, Hyaluronidase, S. 39, 210, 639, 668
52. L o n g s w o r t h , L.G., S h e d l o v s k y and M a c I n n e s , D.A.: Electrophoretic patterns of normal and pathological human blood serum and plasma. J.Exper.Med. 70:399, 1939
53. M a r n a y , A.: Haptoglobinuria in nephrotic syndroms. Nature (London) 191:74, 1961
54. M a t h i e s , H.: Bedeutung des Haptoglobins für die chron.Polyarthritits. Ztschr.Rheumafor. 22:436-439, 1963
55. M a t h i e s , H., S c h l e i f e r , E. und L i e b r i c h , K.G.: Haptoglobinspiegeluntersuchungen bei Gesunden und Patienten mit Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Klin.Wschr. 41:653, 1963
56. M a t h i e s , H., S c h a t t e n k i r c h n e r , M. und L i e b r i c h , K.G.: Der Einfluß von Hyaluronidase-Applikationen auf den Serum-Haptoglobinspiegel des Menschen. Med.exp. 8:95, 1963
57. M a t h i e s , H., S c h a t t e n k i r c h n e r , M. und S c h l e i f e r , E.: Heutiger Stand der Haptoglobinforschung. Med.Klin. 58:121, 1963
58. M i l l e r , L.L.: The dominant role of the liver in synthesis of the plasmamucoproteins as studied with the aid of S^{35} labelled sulfate, lysine 6 C^{14} and acetate 1 C^{14} . 3e Congrès Internat.Biochim.Bruxelles 1955
59. M i l l e r , L.L. and B a l e , W.F.: Synthesis of all plasma protein fraction except gammaglobulin by the liver. J.exp.Med. 99:125, 1954
60. M i l l e r , L.L., B l y , C.G. and B a l e , W.F.: Plasma and tissue proteins produced by non-hepatic rat organs as studied with lysine C^{14} . J.exp.Med. 99:133, 1954
61. M ü l l e r , W. und K l u t h e , R.: Serumweißveränderungen bei Panmyelopathien. Vortrag 8.Kongr.d.Europ.Ges.f.Hämatologie, Wien 1961

62. Nass, G., Eulith, H., Schiebel, W. und Ruhenstroth-Bauer, G.: Zum Mechanismus der Blutkörperchensenkung. IX.Mitt.: Die Plasmakonzentration von Hp. und Coeruloplasmin nach Injektion von Lipopolysacchariden aus E. coli.
63. Neale, F.C., Aber, G.M. and Northam, B.E.: The demonstration of intravascular haemolysis by means of serum paper electrophoresis and a modification of Schumms reaction. J.clin.Path. 11:206, 1958
64. Nyman, M.: Serum haptoglobin, methodical and clinical studies. Akademisk Avhandling, Lund 1959, also published Scand.J.,clin.Lab.Invest.2, Suppl.39, 1959
65. Nyman, M., Gydel, K. and Nosslin, B.: Haptoglobin und Erythrokinetik. Clin.Chim.Acta 4:82, 1959
66. Perrini, M. e Rizzi, D.: Significato biologico e applicazioni cliniche dell'aptoglobina. Recenti Progr.Med.25:190, 1958
67. Polonovski, M.: Haptoglobine et globine du plasma sanguin. R.soc.biol.289:138, 1944
68. Polonovski, M.: L'haptoglobine et sa signification clinique. Recherches médicales en France pendant la guerre 1939-1945. Paris 1945
69. Polonovski, M. et Jayle, M.F.: Peroxydases animales. Bull.Soc.Chim.biol. (Paris) 20:978, 1938
70. Polonovski, M. et Jayle, M.F.: Sur la preparation d'une nouvelle fraction des protéines plasmatiques, l'haptoglobine. C.R.Acad.Sci. (Paris) 211:517, 1940
71. Prokop, O., Serfas, O., Frutcz, H. und Zschocke, F.: Bedeutung und Technik der Haptoglobinbestimmung unter besonderer Berücksichtigung einer landeseigenen Stärke. Ztschr.f.ärztl.Fortbild. 54:675, 1960
72. Prokop, O. und Bundschuh, G.: Die Technik und die Bedeutung der Haptoglobine und Gm-Gruppen in Klinik und Gerichtsmedizin. Walter de Gruyter Verlag, Berlin 1963
73. Robert, L., Membelloni, P. and Crosti, P.: Studies on serum haptoglobin in experimental connective tissue disorders. Proc.Soc.exp.Biol. (N.I.) 107:499, 1961

74. Robert, L., Bous sier, G. et Jay le, M.F.: Groupement sulphhydriques de l'haptoglobine et de sa combinaison hémoglobinique. *Experientia* 13:111, 1957
75. van Roy en, A.H.: Het haptoglobine, een bijdrage tot de kennis der α_2 -globulinen. *Diss.Delft* 1950
76. Ruhenstroth-Bauer, G., Brittinger, G., Kayser, F.H., Nass, G., Tautfest, M.: Der Mechanismus der Blutkörper senkung. VII. Mitt. Zur Chemie der Agglomerine. *Klin.Wschr.* 40:1200, 1962
77. Schultze, H.E. und Heide, K.: Der neueste Stand der Plasmaproteinforschung. *Aus K.Fr. Bauer. Med.Grundlagenforschung*, Bd. III, S. +51, Stuttgart, Georg Thieme Verlag 1960
78. Schumacher, G.: Über den Ablauf von Serumveränderungen bei traumatischer Entzündung. *Verh.Dtsch.Ges.inn.Med.* 66. Kongr.1960, S.875
79. Schumacher, G. und Schlumberger, H.D.: Klinische und experimentelle Studien über Verhalten und Funktion der α_2 -Globuline. III.Mitt.Haptoglobilveränderungen bei posttraumatischer Entzündung. *Klin.Wschr.* 40:81, 1962
80. Schumacher, G. und Schlumberger, H.D.: Eigenschaften, Bestimmung und klinische Bedeutung von Haptoglobin. *Klin.Wschr.* 40:67, 1962
81. Serfas, O. und Schubert, G.: Zur Haptoglobinverteilung im Raum Berlin. *Blut* 6:304, 1960
82. Smithies, O.: An improved procedure for starch-gel electrophoresis: further variations in the serum proteins of normal individuals. *Biochem.J.* 71:585, 1959
83. Smithies, O.: Zone electrophoresis in starch-gel: Group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem.J.* 61:629, 1955
84. Smithies, O. and Walker, N.F.: Genetical control of some serum proteins in normal human serum. *Nature (Lond.)* 176:1265, 1955
85. Smithies, O. and Walker, N.F.: Notation for serumprotein groups and the genes controlling their inheritance. *Nature* 178:694, 1956

86. S m i t h i e s , O. and C o n e l l , G.E.:
Biochemical aspects of the inherited variations
in human serum haptoglobins and transferrins.
In: Biochemistry of human genetics,
Ciba Foundation Symposium. London 1959, S.178
87. S o n n e t , J.: Les glycoprotéines seriques à l'état
normal et pathologique.
Diss. Brüssel 1956
88. v. S t u d n i t z , W. and N y m a n , M.: Effect of
endrogens on α_2 -globulins in women.
J.clin.Endocr. 17:910, 1957
89. T a r u k o s k i , P.H.: Gene frequencies of haptoglobins
types in a swedish population.
Nordisk Med. 62:1425, 1959
90. T h o m a s , L.: Reversible collaps of rabbit ears after
intravenous papain and prevention of recovery
by cortisone.
J.exp.Med. 104:245, 1961
91. T r o i s i e r , J., P o l o n o v s k i , M.,
J a y l e , M.F. et B r i s s a n d , H.E.:
Indice de haptoglobulinémie chez les tuberculeux.
Bull.Acad.Méd. 123:239, 1940
92. T u t t l e , A.H.: Demonstration of a hemoglobine
reactive substance in human serum.
Science 121:701, 1955
93. W i n z l e r , R.J.: Determination of serum glycoproteins,
Methods of biochemical analysis.
Ed.by D.Glick, Vol. 2, New York, 1955
94. W u h r m a n n , F., W u n d e r l y , C.:
Die Bluteiweißkörper des Menschen.
Verlag B. Schwabe u.Co, Basel/Stuttgart 1957.
Properdinsystem S. 55, Elektrophorese S. 102,
Quantitative Fibrinogenbestimmung S. 90

Herrn Professor Dr.med. W. Seitz danke ich für die kritische Durchsicht und die Übernahme des Korreferats.

Herrn Privatdozenten Dr.med. H. Mathies möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas, die Übernahme des Referates und die Bereitwilligkeit danken, mit der er mich bei der Durchführung der Arbeit stets unterstützt hat.

Besonderen Dank schulde ich auch Fräulein Schüle, die mir freundlicherweise bei der Durchführung der Untersuchungen behilflich war, nicht zuletzt auch den Kolleginnen und Kollegen, die sich bereitwillig als Probanden zur Verfügung stellten.

Lebenslauf

Am 27.11.1938 wurde ich, Ingeborg Hennecke geb. Lohmann, als Tochter des praktischen Arztes Clemens Lohmann und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Selb, in Bad Münster am Deister geboren. Dort besuchte ich die Volksschule und anschließend die Viktoria-Luise-Schule in Hameln, wo ich im Jahre 1958 die Reifeprüfung ablegte. Von 1958-1964 studierte ich Medizin an den Universitäten Freiburg, Innsbruck und München. Mein Staatsexamen bestand ich am 12.6.1964 in München. Danach war ich als Medizinalassistentin an der Inneren Abteilung, der Chirurgischen Abteilung, der Gynäkologischen-Geburtshilflichen Abteilung und der Pädiatrischen Abteilung des Stadtkrankenhauses Hameln tätig.

